

(19)

JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number **D 126068**

(13) Date of publication or application **27.04.92**

(51) Int. Cl. **C12M 3/00**
C12M 3/06
C12N 5/06
C12N 5/08

(21) Application number **02248838**

(22) Date of filing **17.09.90**

(71) Applicant **HITACHI PLANT ENG. CONSTR.
CO LTD TOTO LTD**

(72) Inventor **KON MASAHIRO
FUKUSHIMA YUKIO
SU UKI SHIGEMI
YAMANO SHIGERU
MAEHASHI NOBUYUKI**

(54) METHOD FOR CULTURING CELL AND APPARATUS THEREFOR

(57) Abst. ct

PURPOSE To culture a large amount of cells at a high density by feeding a fresh culture solution through a through hole formed in a supporting shaft into a hermetically closed container supplying nutrients and oxygen to cells stuck to perforated plates of a tier unit communicating with the through hole and simultaneously removing waste products.

CONSTITUTION Steam is fed on a boiler 40 through an inflow port 22 into a hermetically closed container 12 to carry out sterilization. Warm water is then circulated from warm water feed port 52 to a jacket 25 of the container 12 to keep the container 12 at a prescribed temperature. A compressor 30 and a vacuum pump 32 are then operated to add cells from a seed cell vessel 34 into the container 12 and a culture solution is simultaneously fed from a storage tank 39 into the container 12. A buffer solution is subsequently fed from a storage tank 36 through the inflow port 22 into the container 12. The culture solution is then taken out through perforated plates 20 and a through hole 16 in a rotating shaft 14 to stick the cells to the surfaces of the perforated plates 20. A fresh culture solution containing nutrients and oxygen is subsequently fed

into the container 12 to supply the nutrients and oxygen to the cells and the culture solution containing waste products is simultaneously taken out through the perforated plates 20 and the through hole 16.

COPYRIGHT (C)1992 JPO Japan

本 国 () ()

寺 午 A 66

〔 〕 号 4 年(1992)4月27
C 12 3/00 9050-4B
3/06 9050-4B
7236-4B C 12 5/00 E

① 朝 平2 24663
② 朝 平2(1990)4月17日

③ 月 者 民

東 千代 田1丁 1番14号 日 ラン 建設

日 フン 京 代 田1丁 1番14号

④ 人 員 式会社 東京・豊島区・島之1丁目1番1号

1. 領主の名前

を神體とする請求。(1)又(2)記の如きの培養装置

2. 特許請求の範囲

「1.實體を有する又、に記載を付けるよる複数の実體内の實體に連通する」と、該

記載者は各成績すると、(1)記載者はの実験で評定すると、成績を記す。

評定すると共に、実験内の実験を大変、又は現

に、状態を開始する手段と

凡てして取 出すことを特徴とする実験の装置

2. 記載者は他の実験の実験に、前記多孔板を
実験を開始するため、液体を、状態で供給
する手段を備え、ここに特徴とする請求項(1)記
の如きの培養装置

特徴を具内に複数の実験装置として、該
の実験に、液体を用いて供給装置を、充満し、該
の供給装置を、して複数個の実験装置を多孔板で隔

ての多孔板の上部の外側上、且つ、

(1)出力を得り、培養液を供給して、且つ、

して多孔板を離れて、心臓管の気体に接続せ

時間アラート項目④ (4) 鋼の細胞の充電方法

(1) 常に充電池又は電池池を充電しておけば、

電池充電技術の進歩で生産の効率が上げられる。

ところが、鉄に充電池を

充電する方法としては、カーボンアンドカ

項目④ (5) 又は⑥ 鋼の細胞の充電方法

クローラー上に荷物

することを前提とする考え方。(4) (5) (6)記載の細胞の充電方法

この方法は、カーボンアンドカ

ードに類する。

カーボンアンドカ

ードで荷物を運ぶ場合に付帯させて出来たもので、既存として効率的と

被を細胞に供給。部分的には、同一の高濃度車両を運搬する。

（明治6年1月1日号公報参照）このカーボンア

ードは、荷物の供給及び取り扱い、そしてカーボンア

ードとして扱っている。

が解説しようとする理由

し
て細
胞

受けたこと、受けたこと、高密度に充電すると
が現

れたこと、高密度充電池を付与させる

のに、カーボンアンドカーボンア

ードに付与する必要がある。一方、カーボンア

ードに付与する必要がある。一方、カーボンア

ードに付与する必要がある。一方、カーボンア

ードに付与する必要がある。一方、カーボンア

ードに付与する必要がある。一方、カーボンア

ードの供給が不足にならぬために、部分的にして高濃度

度の充電を行え。いと、問題がある。すな

べく、カーボンアンドカーボンアンドカーボンア

ードの供給が不足にならぬと、問題がある。

本発明はこのよう、事情に鑑みて成されたもの

細胞に電池を設置して、それを供給して、大

き荷物を高密度で充電する細胞の充電方法を示す。

本発明は、細胞的充電アラートに、並行に細

板（所定間）で1段2段と、に、板、細胞

成る細胞は、細胞構造体を、するとともに隣

接する、細胞壁の構造を、記載細胞間に、活性酸で

供給する手段と、不備えたことを特徴とする。

1 國立編譯館明人之書影集

板を、文物の質過れに連想するよ。に反対して
はる確過失を、否、否、否、こ、確した古文書面を
用ひ、古文書を、状態にして復活、而に状態す
て文物の質過化を大気圧又は減、状態
にしを期、なむむ古文書を多方面及び質過化セラ
して取り出すことを特點としている。

三六四

本発明によれば、貢高子が花嫁され
る文句
に、「貢高に至極才」と「に御高は
殿を賞

そこでこの供給手段を操作すると新しい地質層を出し空洞に供給して通過体の各月年に付帯して常に一定量の土砂を供給するに問題ない。

卷之三

下記に図版にて本よりに用いる用語の定義

第3回は多孔板20の内側と、その内圧は約14
の取扱、試験とを示したものである。多孔板20は
図の内板で、その内凹面を左に転じて、
右と連通する吸込管18に接して居
て、左。右各板20は内径10 mm 100
mmと想て、通過抵抗が小さく、右側の内圧は約6
mmHg、左側は0.015mmHgと大きく、通過量
は大きくなるので、多孔板20を
多孔板20の上に置き、これで、
のため、
通すことにには多孔板20の表面の圧縮が要
て、多孔板20上のいずれの箇所にも
大きな変形はない。

めに、表面の厚さを約 2.0 mm に研磨している。この半径 2.0 mm の裏面が 300 mm

す全体である。右側面（図1-2左側）の密閉部屋（2）には多孔板（3）
（図1-3）が設けられ、この多孔板（3）は、この多孔板（3）
の回転軸（4）は、図2-2に示すように密閉部屋（2）
の（5）に回転自在である。図1-4には
輪郭上に青点れ16が示されてゐる。貫通
穴（6）は第2回上で、軸軸（4）の左側面に開口して灰
人口（18A）を形成し、図1-4には
アーチの多孔板（20、22）が装置され、この多
孔板（20）は貫通穴（6）を通して貫通穴（16）に導通
している。

車さがりに走られ、消防署西口の駐輪場に止まっている。

次第に「3が引かれている部分は
2は+1回に示すようになってあることを、個々の
各層（-4、-3.6、-3.8、-3.9、-4.0、-4.2、-4
、-4.6）、及「最後のための圧力値となる」
が、-0.真空ポンプ3.2時に前記されて
る。

（下部）間に通ついてこれ。この關係を明了すると、
本研究圖 1-2 の流入人口 2-2 には、福島町圧縮 3-1
五井などに使用される標準気の子彈 3-5、多井原
2-1 を加算するアーリ版の子彈 3-3、日高
子彈 3-9 が加算されてし。これの子彈 3-
4、3-5、3-6 及び 3-9 は、シップ 3-0 と
組まれており、シップ 3-0 から子彈 3-9 までの
間で頭を加圧し、本研究圖 1-2 に加れるよ
うである。また、流入人口 2-2 には本研究の範
を越えて、オーバー 4-0 も追加されてし。

次に、図 1-2 の結果を算出する
図 3-A、及び結果を丁寧多用版 2-0、別紙を

新たに生じた細胞を増殖するための方法

分子数………13の細胞塊14の放出入（10A）には、培養完了後それを板20→細胞を剥離させるためのブレンを一括するため11ブレン板42が準備されている。このブレン板42もコンプレッサ38と接続されておりコンプレッサ30との間に圧縮空気で吹きかけた。

また、この流出入口16Aに、細胞の生産物を回すする生産管管44、細胞の走行12を取る支管管44'が接続されている。この支管管44'は真空ポンプ32と接続されており

止めるようになってる。

四、第1加温室48は細胞、イルク50、細胞供給用具の細胞の生産物用の切替装置24上、52は、カセット25への漏水供給口54はジャケット25からの漏水供給口55はジャケット25からの漏水供給口56はジャケット50はアダプタ58である。

四、12内に送り多孔板20→20→を介して細胞を回転、14の漏過孔16から取り出すことによって行う。

これによれば細胞はほとんど多孔板20→20→に残されると多孔板20→20→を通過することができない。従って、強制的に多孔板20→20→の表面に付着さうされる。通常、われて、る浮遊のみによる細胞の付着時間が1~14時間要するのに對して本発明の方法を採用すれば約30分で付着が完了す。このため細胞の付着率及び生存率をほぼ100%にできる。

然し、細胞を、この状態を保つにして多孔板20→20→に付着した細胞、大に剥離する。この操作は、細胞管42の流入口42→41→1067Aに止めて細胞の細胞を注入し漏れ孔16の大気圧まで0.03mmHg程度の減圧状態にし、細胞人口16を経て若葉液を取り

る。

次に、先月の細胞の培養装置による細胞の供給として、人細胞骨髄細胞によるIFN（インターフェロン）の生産を示す。

まず、最初に管12の流入口22→12→16Aより、氮氣を送り、管12→16A→支管44→24を20分間、上12にて保つことにより空調化を行う。次に、粗いのは漏水供給口52からの漏水を絞して細胞管42のシャッターブラシに漏水を噴霧させて細胞管42を37℃に保つする。

この状態、細胞を多孔板20→20→の表面に付着する。初期への付着は、コンプレッサ30及び真空ポンプ32を駆動して細胞を細胞培養槽44から密閉容器12内に漏たすと共に、漏れ孔10→11に導通し、培養液（汗・清涼液）えた（5ml/g）を細胞管42に注入する。かく密閉容器12内に漏たした後、細胞し細胞細胞を初期（P.S段）を、5ml/g/Lに加温して細胞培養槽44から漏入口22を介して密閉容器

なる培養瓶は多孔板20の表面に付着した細胞に栄養液と酵素とをあらわと共に、細胞を代謝した老廃物を含めて多孔板20の内面へ送り漏れ孔16

培養48にて、前後には多孔板20→20→上

積して出する培養液、このIFN供給用を1IFNの生産開始する。IFNは、漏れ孔16の漏入口16Aが細胞管42に取り出される。

次に、IFNの生産完了した細胞を多孔板20→20→を剥離して、多孔板20→20→を再使用する。これは、密閉容器12内の培養液を廃棄液と交換した後、漏れ孔16を遮してトリフレン板を多孔板20→20→の内面から剥離させた後、これが又ある。この方法によると、多孔板20→20→に付着している細胞の漏出をトレンシングで直接削除するので、2分間に剥離が能する。この手順は、トレンシング板や、剥離するための器具の方法の約1/10に相当する。

また、二時半—5.6を開始して、多孔板20—20…を回転すると、3

回轉された細胞は、約0.5—1.2を緩液で洗淨する。

出し、一時は次回の培養の細胞として利用するため細胞培養槽34に回収する。

細胞の挿入後、多孔板20—20…を洗浄するたゞに、第5回目—13をアルカリ液（蛋白質を含む0.5%の水化アルミニウム液）で洗、多孔板20—20…を10 rpmで約1時間する。この操作にて、多孔板20—20…は、その表面上の付着物（細胞を除去することができるもので、細胞培養に使用できる）前記実験例では、培養の細胞の供給のびととして、細胞を電気炉温22℃に供給し、細胞を大量に膨張する細胞の場合は、次の方法で装置を供給することができます。まず、培養液の量を電気炉温12℃の約1.5Lとし、多孔板20—20…の分が熱かられるようにしてから多孔板20—20…を30—50 rpmで回さ

る。二、状態で注入2.2mlの細胞を含む液体

の細胞の供給が早くなる。

また、前記実験例では、植物の1.5gとして細胞培養槽を以って細胞代謝した細胞を出し、培養槽にして実験の細胞を以てよい。

更に、前記実験例では、本機器—3の回転数、イガ一輪の速さたゞ、で回りしたときに限らず、

する場合には、第4回に示すように回転数を100rpmしててもよい。この場合の細胞の細胞数の場合は回を無了用に下す。即ち、第3回までさしはせきを回り、第4回に上りて前記実験例と同じ材料につづいて内筒を

第4回、示、実験例では、アートの多孔板—1の多孔板を調査していない限り、

第5回、示、実験例では、アートの多孔板—1の多孔板を調査していない限り、

発明の効果

本発明に係る培養方法は既にその装置によれば、の確率はの多孔板の全般、細胞と培養液を均一に保つてある。すなはち、多孔板に付着した細胞に付着液に含まれている生葉成分、細胞を常に供給する性、大量の細胞を高密度に培養する性。

更に、細胞細胞壁を通過することによって、細胞間的細胞体の多孔板に細胞を短時間、約2時間に付着することができる。

更に、高濃度ではに付着した細胞を細胞液の多孔板から剥離することができるので多孔板の再生が可能である。

即ち、多孔板を多孔板の大半を多孔板の表面はの外周上に孔板の大きな多孔板の膜を脱けた多孔板にすることによって、多孔板の表面のいずれの部分からも一時に培養液の供給（即ち）して行うことができる。更に、細胞を容易に付着

4. 装置の簡単な説明

第1図は本発明に係る装置の概要装置を示す。本図、第2図をあわせて、本装置は前記第1回、第3回の多孔板、或大口、或小口は本機器の供給細胞の培養液の供給部に使用されると多孔板アートの供給部、或小口は第4回の多孔板アートの使用された細胞の培養部。

（1）機器の概要装置、1.2—6.0、電源装置、1.4—7.0、1.6、高濃度、7.2—8.0、注入部、3.0—庄宿部、3.2—真空部、3.4—細胞供給部、3.9—培養液供給部。

代理人：井澤士郎

2 8

■

54 52 25 12 22

26
26
26

16
1

7

■

2 0 . 8

1 1
2 S/O
5/08